



University of Groningen

Model systems for iron copper containing oxygenases.

Lubben, Marcel

IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

Document Version

Publisher's PDF, also known as Version of record

Publication date:

1994

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

Citation for published version (APA):

Lubben, M. (1994). Model systems for iron copper containing oxygenases. s.n.

Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

Dit proefschrift beschrijft het ontwerp en de synthese van nieuwe katalysatoren voor oxidatiereacties. Oxidaties zijn niet alleen belangrijk in de industrie maar zijn ook van grote wetenschappelijke interesse. In de industrie is oxidatie één van de belangrijkste manieren om in goedkope, weinig reactieve, koolwaterstoffen functionele groepen aan te brengen. Op deze manier ontstaan chemische verbindingen die meer geschikt zijn voor vervolgreacties dan de oorspronkelijke koolwaterstoffen. Hoewel de omzetting van bijvoorbeeld methaan (CH_4) naar methanol (CH_3OH) eenvoudig lijkt, is deze mechanistisch nog weinig begrepen en bovendien niet erg selectief. Eén van de redenen hiervoor is dat methanol gemakkelijker geoxideerd wordt dan methaan zelf.

Toch heeft de natuur enzymen ontwikkeld die dergelijke reacties met een hoge mate van selectiviteit en onder uiterst milde omstandigheden kunnen uitvoeren. Enzymen die de incorporatie van één of meerdere zuurstof-atomen kunnen bewerkstelligen worden oxygenases genoemd. De meeste oxygenases zijn metallo-enzymen die ijzer- of koperionen in hun actieve centrum bevatten. Eén of meerdere metaalionen worden door het enzym gecoördineerd met behulp van functionele groepen van de aminozuren waaruit het enzym is opgebouwd. Afhankelijk van de aard van de coördinerende groepen verkrijgt het metallo-enzym specifieke eigenschappen die onder andere bepalen welk soort oxygenering, bijvoorbeeld hydroxylering, epoxidatie of hetero-atoom oxidatie, gekatalyseerd gaat worden.

Als de functie van deze ijzer- en koperbevattende oxygenases nagebootst zou kunnen worden, ontstaan katalysatoren voor selectieve oxidaties onder milde omstandigheden. Dit proefschrift beschijft de synthese en toepassingen van ijzer- en koperbevattende oxygenases om tot dit doel te komen. Dit is als volgt aangepakt. Door de omgeving van het metaalion in het actieve centrum van het metallo-enzym na te bootsen met behulp van relatief eenvoudige, coördinerende moleculen, ook wel liganden genoemd, ontstaan coördinatiecomplexen die een zekere *structurele* overeenkomst met het metallo-enzym in kwestie vertonen. Een interessante vraag is nu of deze coördinatiecomplexen ook dezelfde katalytische activiteit vertonen als de metallo-enzymen die ze nabootsen. Als dit het geval is, heeft de synthese van het coördinatiecomplex niet alleen tot een *structureel* model voor de betreffende oxygenase geleid, maar ook tot een *functioneel* model. Door op deze manier oxygenases na te bootsen, is getracht reactieve oxidatiekatalysatoren te synthetiseren voor laboratoriumgebruik en industriële toepassingen.

Hoofdstuk 1 beschrijft de rol van ijzer in de natuur. Een groot aantal enzymen blijkt ijzer te bevatten. De functies van deze enzymen kunnen zijn: (a) opslag van ijzer-ionen, (b) transport van ijzer-ionen of (c) specifiek gebruik van ijzerionen bijvoorbeeld voor transport van elektronen, voor zuurstof-transport of als katalysator voor chemische oxidatiereacties. De nadruk zal liggen op ijzerbevattende oxygenases. Hoofdstuk 1 besluit met het doel van het onderzoek en een korte beschrijving van de inhoud van het proefschrift.

In Hoofdstuk 2 worden modelsystemen beschreven die de katalytische functie van cytochrome P-450 nabootsen. Cytochrome P-450 behoort tot de klasse van haem-proteïnen welke gekenmerkt worden door de aanwezigheid van een vlakke porfyriene-ring als ligand voor ijzer. Cytochrome P-450 katalyseert een groot aantal oxidatiereacties. Voorbeelden hiervan zijn de epoxidatie van olefines, de hydroxylering van alkanen en hetero-atoom oxidaties. Door gebruik te maken van vlakke dianionische fenolaat liganden

zijn een aantal modelcomplexen gesynthetiseerd. Deze ijzer-fenolaat complexen zijn inderdaad katalytisch actief in de epoxidatie van olefines met natrium hypochloriet. De katalytische activiteit is echter laag. De tijd die nodig is om één molecuul product (epoxide) per één molecuul katalysator te verkrijgen, het zogenaamde turnover getal, is meer dan een uur. Met behulp van ^1H NMR spectroscopie wordt aangetoond dat de mononucleaire ijzercomplexen vrijwel instantaan omgezet worden in zuurstof-gebrugde (μ -oxo) dinucleaire ijzercomplexen.

De synthese van een model voor het actieve centrum van ijzer-bleomycine (FeBLM) is het onderwerp van Hoofdstuk 3. FeBLM is verantwoordelijk voor selectieve oxidatieve splitsing van DNA maar is ook in staat de oxidatie van een scala aan substraten te katalyseren waaronder hydroxylering van alkanen en oxidatieve demethylering van N-methylamines. Door gebruik te maken van een nieuw ligandsysteem met vier pyridinegroepen en een tertiair amine wordt de volledige stikstof-coördinatie in FeBLM perfect nagebootst zoals aangetoond wordt door de kristalstructuur van het FeBLM modelcomplex. Reactie van het modelsysteem met waterstof peroxide genereert een paarsgekleurd kortlevend deeltje. Met behulp van ESR, Raman spectroscopie and electrospray massaspectrometrie is aangetoond dat dit reactieve deeltje een Fe(III) hydroperoxide adduct is. Verondersteld wordt nu dat een Fe(III) hydroperoxide deeltje ook een rol speelt in de katalytische cyclus van FeBLM als 'geactiveerd' FeBLM. Hoofdstuk 3 beschrijft dus niet alleen een structuurmodel voor FeBLM in zijn grondtoestand maar ook voor het geactiveerde enzym.

Hoofdstuk 4 laat vervolgens zien dat het FeBLM model, beschreven in Hoofdstuk 3, niet alleen een uitstekend structuurmodel is, maar ook de katalytische functie van het enzym nabootst. Het ijzercomplex is katalytisch actief in de hydroxylering van cyclohexaan, cyclohexeen, adamantaan en benzeen, de oxidatieve splitsing van styreen, de oxidatieve demethylering van N,N-dimethylaniline en de dehydrogenering van benzylalcohol. Een mechanistische studie laat zien dat de actieve oxidant een radicalair karakter heeft. Een vergelijking wordt gemaakt met de katalytische activiteit van andere synthetische ijzercomplexen en met een industrieel cyclohexaan-oxidatieproces.

Een synthesesmethode voor een nieuwe klasse liganden wordt beschreven in Hoofdstuk 5. Deze liganden zijn ontworpen om twee metalen te kunnen binden op een zodanige manier dat beide metalen op een verschillende wijze gecoördineerd worden. De reden hiervoor is dat in metallo-enzymen die twee metalen in hun actieve centrum bevatten, beide metalen ook dikwijls een verschillende omgeving hebben. De liganden bevatten een fenolgroep die als bruggende groep kan fungeren tussen beide metalen. Beide *ortho*-posities van de fenolgroep zijn via een methyleengroep verbonden met een polyamine fragment. Beide polyamine fragmenten zijn echter verschillend zodat niet-symmetrisch diaminogemethyleerde fenolen ontstaan. Twee synthesesmethodes voor deze liganden zijn ontwikkeld. De eerste methode omvat twee opeenvolgende aromatische Mannich reacties op *para*-cresol met twee verschillende secundaire amines. Bij de tweede methode wordt allereerst een Mannich reactie uitgevoerd op een salicylaldehyde. Vervolgens wordt na reductieve aminering van het aldus verkregen geaminomethyleerde salicylaldehyde het gewenste niet-symmetrische diaminogemethyleerde fenol verkregen. De complexerende eigenschappen van deze liganden wordt geïllustreerd aan de hand van de synthese van een niet-symmetrisch dinucleair koper complex.

Hoofdstuk 6 begint met een uitgebreid overzicht van dinucleaire koperenzymen die een (ir)reversibele interactie met moleculair zuurstof vertonen. De kristalstructuur van het

in Hoofdstuk 5 beschreven dinucleaire kopercomplex laat duidelijk zien dat beide kopercentra een verschillende chemische omgeving bezitten. Het dinucleaire kopercomplex is verder uitgebreid gekarakteriseerd met behulp van magnetische metingen en ^1H NMR spectroscopie. Door gebruik te maken van UV-Vis spectroscopie en microcalorimetrie wordt aangetoond dat het dinucleaire kopercomplex gevormd wordt op een stapsgewijze manier via een mononucleair kopercomplex. Hieruit blijkt de verschillende affiniteit van het ligandsysteem voor beide koperionen. Deze situatie is identiek aan die in tyrosinase, een dinucleaire koperbevattende oxygenase, aangezien beide koperionen in tyrosinase eveneens verschillend sterk gebonden worden.